

METHOD AND APPARATUS FOR OPTICAL INSPECTION

Patent Number: JP8015155
Publication date: 1996-01-19
Inventor(s): UCHIKAWA KIYOSHI
Applicant(s):: NIKON CORP
Requested Patent: ☐ JP8015155
Application JP19940152382 19940704
Priority Number(s):
IPC Classification: G01N21/64
EC Classification:
Equivalents:

Abstract

PURPOSE: To obtain an optical inspection apparatus in which the echo of accumulated light can be detected accurately from fluorescence even under a state where the intensity of exciting laser light fluctuates.

CONSTITUTION: Light from a light source 100 passes through an optical system 200 for optical modulation to produce linearly polarized orthogonal components. The optical path length is varied sequentially by an optical delay unit 230 for one component whereas the phase is modulated by a phase modulator 220 for the other component before both components are combined to irradiate a sample M. Fluorescence emitted from the sample M is split by a polarization beam splitter into linearly polarized orthogonal components and the intensity thereof is measured with detectors 341, 342 and then the difference is determined by a differential amplifier 343. A lock-in amplifier 344 amplifies only the component having frequency two times that of the modulation frequency for the difference data. Finally, a phase releasing time is determined based on a relationship between the results thus obtained and the delay time.

Data supplied from the **esp@cenet** database - I2

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平8-15155

(43)公開日 平成8年(1996)1月19日

(51)Int.Cl.⁶

識別記号

庁内整理番号

F 1

技術表示箇所

G 0 1 N 21/64

E

審査請求 未請求 請求項の数10 O L (全 10 頁)

(21)出願番号 特願平6-152382

(22)出願日 平成6年(1994)7月4日

(71)出願人 000004112

株式会社ニコン

東京都千代田区丸の内3丁目2番3号

(72)発明者 内川 清

東京都千代田区丸の内3丁目2番3号 株

式会社ニコン内

(74)代理人 弁理士 三品 岩男 (外1名)

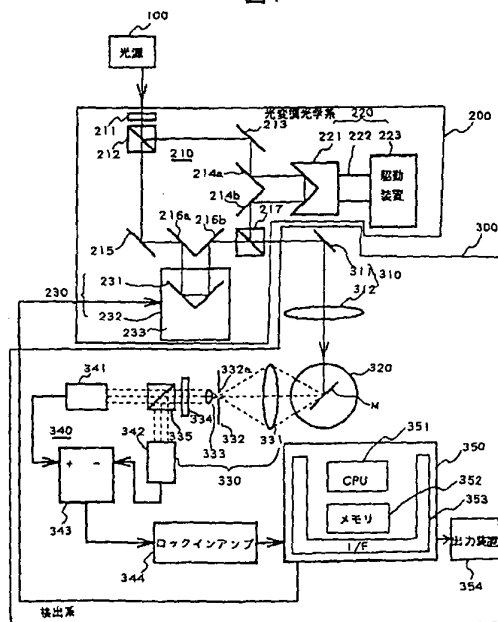
(54)【発明の名称】 光学的検査方法および光学的検査装置

(57)【要約】

【目的】 励起レーザー光の強度揺らぎのある状況下でも、正確に蓄積光エコーを蛍光から検出できる光学的検査装置を提供する。

【構成】 光源100からの光を、光変調光学系200において、互い直交する直線偏光成分に分け、その一方の成分について、光遅延器230により光路長を順次変化させ、かつ、他方の成分について位相変調器220により位相変調を行なった後、これらを合成して、試料Mに照射する。試料Mからの蛍光を偏光ビームスプリッタで互い直交する直線偏光成分に分け、それぞれについて検出器341、342により強度を測定し、得られたデータについて作動アンプ343での差分を求める。そして、得られた差分データについて、ロックインアンプ344で変調周波数の2倍の周波数成分のみ増幅する。得られた結果と遅延時間 τ との関係から、位相緩和時間を求める。

図1



1

【特許請求の範囲】

【請求項1】像面上で点光源とみなせる空間コヒーレンスと所定の時間コヒーレンスとを有する光を、互いに直交する直線偏光よりなる2光束に分割して、それぞれの光路を進行させ、いずれかの光路の光路長を変化させ、かつ、いずれかの光路において、光を位相変調した後、2光束を合成して、試料に照射し、試料から放射される蛍光を、互いに直交する直線偏光よりなる2光束に分割し、それぞれの強度を検出し、かつ、それぞれの検出信号の差分を求め、この差分データについて上記位相変調の周波数の偶数倍のいずれかの変調強度を選択的に増幅して蓄積エコー強度を求め、さらに、光路長を異なる長さに変化させて、上記手順を繰返し、光路長の変化による遅延時間と、その時の蓄積エコー強度とを得ることを特徴とする光学的検査方法。

【請求項2】請求項1において、位相変調を周波数 f で行ない、周波数 $2f$ の変調強度を選択的に増幅して蓄積エコー強度を求める、光学的検査方法。

【請求項3】像面上で点光源とみなせる空間コヒーレンスと所定の時間コヒーレンスとを有する光を放射する光源と、光源からの光を、互いに直交する直線偏波成分に分割して、いずれか一方について、光路長を変化させ、かつ、いずれか一方を位相変調した後、合成して射出する光変調光学系と、光変調光学系から出射される光束を、試料に照射して、試料から放射される蛍光を互いに直交する直線偏光よりなる2光束に分割して、それぞれの強度を検出し、かつ、それぞれの検出信号の差分を求め、この差分データについて上記位相変調の周波数の偶数倍のいずれかの倍数の変調強度を選択的に増幅して蓄積エコー強度を求める検出系とを備えることを特徴とする光学的検査装置。

【請求項4】請求項3において、光変調光学系は、光源からの光を互いに直交する直線偏光よりなる2光束に分割する光分割器と、該光分割器により分岐された2光束の一方の光路中に配置配置され、光路長を任意に変化させることができる光遅延器と、該2光束に分割された2光束の一方の光を所定の周波数で位相変調するための位相変調器と、該2光束を合波する光合成器とを備える光学的検査装置。

【請求項5】請求項4において、検出系は、合成されて出射された光を試料のある位置まで導いて、試料に照射するための照射光学系と、試料を保持するための試料保持部と、試料から放射される蛍光を集光すると共に、互いに直交する直線偏光よりなる2光束に分割する検出光学系と、蛍光を電気的に検出して、その電気信号を処理する信号処理部と、

2

上記光遅延器の制御および上記処理された信号に基づいて、情報処理を行うコンピュータとを有する光学的検査装置。

【請求項6】請求項5において、信号処理部は、分離された該偏光成分の強度を独立に検出するための2つの光センサと、光センサのそれぞれの出力の差分を求める差動アンプと、該差動検出器からの出力から、前記位相変調器の変調周波数の偶数倍の変調成分を抽出し増幅するロックインアンプとを備える光学的検査装置。

【請求項7】請求項6において、コンピュータは、光遅延器を目的の遅延時間とするための制御と、ロックインアンプから出力される測定データを、遅延時間と対応させて記憶する処理を行なうものである光学的検査装置。

【請求項8】請求項5、6または7において、検出光学系は、

試料から放射された蛍光のうち、目的の蛍光を透過させるフィルタをさらに備える光学検査装置。

【請求項9】請求項5、6または7において、検出光学系は、試料に照射される光スポットを2次元に走査する走査機構をさらに備える光学的検査装置。

【請求項10】請求項5、6または7において、検出光学系は、試料に照射される光スポットを2次元に走査する走査機構と、該光スポットを試料の深さ方向に変位させると駆動装置とをさらに備える光学的検査装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、物質の物理化学的な性質の差を、光学的に観察できる光学的検査方法および光学的検査装置に関する。

【0002】

【従来技術】一般の光学顕微鏡に対して、レーザー光源を用いたレーザー走査顕微鏡が知られており、種々の顕微鏡に利用されている。このうち、共焦点型レーザー走査顕微鏡は、照明系の焦点位置に被検物体を配置して、ここに、光スポットを形成し、被検物体からの光をピンホール上に集光して光検出をするものである。共焦点型レーザー走査顕微鏡で得られる画像は、非常に浅い焦点深度を有していることから、光軸方向の走査を行うことによって、所謂セクション効果による無限に深い焦点深度が得られるという利点を有している。

【0003】しかし、共焦点型レーザー走査顕微鏡によって得られる被検物体の情報は、通常の光学顕微鏡の画像から得られる情報と比較すると、質的に大差ないものであった。

【0004】そこで、試料をただ観察するという従来の顕微鏡の機能の他に、試料の物理化学的な性質の差異に関する情報を得ることのできる光学的検査装置が提案さ

3

れている。すなわち、本出願人によって提案された特開平 4-269644 号公報に開示される光エコー顕微鏡がそれである。この光エコー顕微鏡は、光学的位相緩和時間（一般に T2 緩和時間、或いは横緩和時間と呼んでいる）を、走査手段との組合せにより、2 次元的に、さらには、3 次元的にマッピングすることにより、対象物の構造等を明らかにするという新たな機能を有している。すなわち、通常のレーザ顕微鏡としての走査像の他に、そのレーザ光と共鳴する光吸収体が試料中にある場合は、光エコーによる光位相緩和時間を測定することにより、試料の物理学的な性質をも明らかにできる。例えば、レーザ光と共鳴し得る色素を、結晶質と非晶質とが混在するポリマー中に分散した場合、結晶質中と非晶質中では光位相緩和時間が異なることを利用すれば、非晶質相と結晶質相とがどのような形で混在するのかが観察することができる。

【0005】ところで、固体の位相緩和時間は、蓄積フォトンエコーの検出により測定することが可能である。しかし、生物試料のような光散乱体に対しては測定が困難であった。上記光エコー顕微鏡で用いられる、蓄積光エコーの蛍光検出法は、光散乱体に対しても有効な方法として、筆者らにより提案された検出法である。また、この検出法は、特に、共焦点型レーザ走査顕微鏡の形態を有することができることから、その照明系の焦点における光エコーを簡便に測定する方法としても知られている。

【0006】なお、光エコーの光位相変調による蛍光検出法については、本出願人により出願された特開平 4-132020 号公報に開示されている。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】ところで、蓄積光エコーの蛍光検出法において検出される蛍光の強度変調は、一般には、4 次の非線形光学現象により説明される現象であり、その変調深度は極めて小さいことが通常である。従って、励起レーザ光の出力強度揺らぎがある場合は、それに誘起される蛍光の強度揺らぎにより、蓄積光エコーを正確に測定できないことがあり得る。そこで、励起レーザ光の強度揺らぎのある状況下でも、正確に蓄積光エコーを蛍光から検出できるようにすれば、より好ましい。

【0008】本発明の目的は、励起レーザ光の強度揺らぎのある状況下でも、正確に蓄積光エコーを蛍光から検出できる、光学的検査方法および光学的検査装置を提供することにある。

【0009】

【課題を解決するための手段】上記目的を達成するため、本発明の一態様によれば、像面上で点光源とみなせる空間コヒーレンスと所定の時間コヒーレンスとを有する光を、互いに直交する直線偏光よりなる 2 光束に分割して、それぞれの光路を進行させ、いずれかの光路の光

4

路長を変化させ、かつ、いずれかの光路において、光を位相変調した後、2 光束を合成して、試料に照射し、試料から放射される蛍光を、互いに直交する直線偏光よりなる 2 光束に分割し、それぞれの強度を検出し、かつ、それぞれの検出信号の差分を求め、この差分データについて上記位相変調の周波数の偶数倍のいずれかの変調強度を選択的に増幅して蓄積エコー強度を求め、さらに、光路長を異なる長さに変化させて、上記手順を繰返し、光路長の変化による遅延時間と、その時の蓄積エコー強度とを得ることを特徴とする光学的検査方法が提供される。

【0010】上記態様において、位相変調を周波数 f で行ない、周波数 $2f$ の変調強度を選択的に増幅して蓄積エコー強度を求めることができる。

【0011】また、本発明の他の態様によれば、像面上で点光源とみなせる空間コヒーレンスと所定の時間コヒーレンスとを有する光を放射する光源と、光源からの光を、互いに直交する直線偏波成分に分割して、いずれか一方について、光路長を変化させ、かつ、いずれか一方を位相変調した後、合成して射出する光変調光学系と、光変調光学系から射出される光束を、試料に照射して、試料から放射される蛍光を互いに直交する直線偏光よりなる 2 光束に分割して、それぞれの強度を検出し、かつ、それぞれの検出信号の差分を求め、この差分データについて上記位相変調の周波数の偶数倍のいずれかの倍数の変調強度を選択的に増幅して蓄積エコー強度を求める検出系とを備えることを特徴とする光学的検査装置が提供される。

【0012】上記光変調光学系は、例えば、光源からの光を互いに直交する直線偏光よりなる 2 光束に分割する光分割器と、該光分割器により分岐された 2 光束の一方の光路中に配置配置され、光路長を任意に変化させることができる光遅延器と、該 2 光束に分割された 2 光束の一方の光を所定の周波数で位相変調するための位相変調器と、該 2 光束を合波する光合成器とを備える構成とすることができる。

【0013】また、上記検出系は、例えば、合成されて射出された光を試料のある位置まで導いて、試料に照射するための照射光学系と、試料を保持するための試料保持部と、試料から放射される蛍光を集光すると共に、互いに直交する直線偏光よりなる 2 光束に分割する検出光学系と、蛍光を電気的に検出して、その電気信号を処理する信号処理部と、上記光遅延器の制御および上記処理された信号に基づいて、情報処理を行うコンピュータとを有する構成とすることができる。

【0014】ここで、上記信号処理部は、分離された該偏光成分の強度を独立に検出するための 2 つの光センサと、光センサのそれぞれの出力の差分を求める差動アンプと、該差動検出器からの出力から、前記位相変調器の変調周波数の偶数倍の変調成分を抽出し増幅するロック

インアンプとを備える構成とすることができる。

【0015】上記コンピュータは、光遅延器を目的の遅延時間とするための制御と、ロックインアンプから出力される測定データを、遅延時間と対応させて記憶する処理を行なうものとしてすることができる。

【0016】上記検出光学系は、試料から放射された蛍光のうち、目的の蛍光を透過させるフィルタをさらに備える構成とすることができる。また、検出光学系は、試料に照射される光スポットを2次元に走査する走査機構をさらに備えることができる。さらに、検出光学系は、試料に照射される光スポットを2次元に走査する走査機構と、該光スポットを試料の深さ方向に変位させると駆動装置とをさらに備えることができる。

【0017】また、レーザー光源は被検物体に対して注目する光吸収帯を光励起でき、また該光吸収帯の光学的位相緩和時間よりも短い時間コヒーレンスを有することが望ましい。

【0018】

【作用】被検物体が、蓄積光エコーおよび蛍光を生じ得る物理化学的特性を有している場合には、光エコーの振幅は、位相変調周波数の2倍乃至は偶数倍の蛍光強度変調として現れる。この過程について、以下に簡単に説明する。なお、光エコー現象は、3次の非線形光学効果の一種であり、その生成過程については、例えば、「実験化学講座、第12巻」(第4版、日本化学会編、丸善(株))等に詳しく述べられている。

【0019】蛍光から蓄積光エコーを観察するためには、少なくとも4つの光パルス、あるいはパルス列が必要である。第1の光パルスと第2の光パルスの時間間隔(遅延時間)を τ とし、第3の光パルスと第4の光パルスの時間間隔も τ となるように設定する。モード同期レーザーのように規則正しいパルス列を放射する光源では、このようなパルス列の生成は単純な2光束干渉計を用いれば容易に達成される。また、インコヒーレント光を微小なパルス列と解釈すれば、インコヒーレント光を励起光として用いた場合と同様な光学系を用いて、上述の光パルス列を生成できる。

【0020】次に、第2および第4の光パルスを、それぞれ第1および第3パルスに対して位相変調する。位相変調器としては、従来考案されているすべての装置を用いることができるが、できるだけ残存する強度ノイズが少ないものが望ましい。ここでは、ドップラー変調器を位相変調器に用いた場合について説明する。この場合には、前述のパルスの時間間隔(遅延時間) τ を、 τ を中心として適当な時間幅 $\Delta\tau$ で、周波数 f で変調することになる。このような光変調を実現するためには、前述の2光束干渉計の一方の光路中に周波数 f で振動する移動鏡を配置すれば良い。

【0021】このような方法で、時間遅延および位相変調を施されたパルス列が試料に入射した場合の4次の非

線形光学応答を考える。回転波近似のもとでは、4次の光学応答は、試料中の励起状態の占有数(population)の変化となって現れる。この変化は、蛍光強度の変化として観測することが可能である。前述したように、光エコーは3次の非線形光学応答であるが、回転波近似のもとでは、この応答は物質中に励起された分極波となる。3次の非線形分極波と4次の非線形応答である蛍光とは密接な関係にあり、蛍光緩和時間が位相変調の周期よりも充分短い場合には、蓄積光エコーの振幅、つまり物質中で位相整合された分極波の大きさは、蛍光の $2f$ 、あるいは、偶数倍の変調強度に比例することがわかる。蓄積光エコーの強度を異なる遅延時間 τ のもとで順次測定を行い、蓄積光エコー強度の遅延時間 τ 依存性から、測定物の光学的位相緩和時間を間接的に知ることができる。光学的位相緩和時間は、測定物の微視的なダイナミクスの差を敏感に反映することから、光エコー測定により物性についての多くの情報が得られるのである。

【0022】蓄積光エコーの蛍光検出法において、試料の位相緩和時間は、上記光遅延器により2つの光ビームの光路長差を順次変化させながら、蛍光の強度変調深度を記録することにより得られる。しかし、光エコー現象による蛍光の強度変調の変調振幅は非常に小さく、レーザー光の強度揺らぎに誘起される蛍光強度揺らぎにより、光エコー信号が消されることがある。このような欠点を改善するためには、独立の2つの光検出器で、信号A=光エコー信号+蛍光の背景ノイズ(バックグラウンドノイズ)

信号B=蛍光の背景ノイズ

の2つの信号を検出し、後で両者の差を取れば、光エコー信号のみを検出することが可能である。すなわち、

信号A-信号B=光エコー信号

一般には、このようなノイズ除去の方法として、励起レーザー光の強度をモニターして、信号Bを得る方法が採用されている。しかしながら、光エコー計測では、単に、励起レーザーの強度ノイズのみならず、位相ノイズも蛍光強度に影響を与える。従って、2光束に分波され、および、合波された後の合成波の強度をモニターする必要がある。さらに、生物試料のような光散乱の多いサンプルを測定する場合は、試料面における、光スポットの微小な移動や振動等も、観測される蛍光強度を変化させる。結局、蛍光の背景ノイズは、試料面から放射される蛍光を直接モニターすることが望ましい。

【0023】図2は、蓄積光エコーの原理を説明するための概略の光路図である。光源100からの入射レーザーは、偏光ビームスプリッター212で2光束に分波される。分波された一方(R)は、コーナーキューブプリズム221と圧電素子222とを有する光位相変調器220で変調され、他方(L)は、コーナーキューブプリズム231と水平移動ステージ232で構成される光遅延器230により、サンプルMへの到達時間が制御され

7

る。分割された2光束が偏光ビームスプリッタ212で合成され、照射光学系310を介してサンプルMに投射して、光スポットを形成する。この照射によって、試料Mから発生した蛍光は、レンズ331集光され、色ガラスフィルタ334で長波長側の蛍光のみが選択された後、光検出器341に入射する。

【0024】光エコー現象を詳しく解析すると、光束(R)の光路長が光束(L)の光路長よりも長い場合は、光エコー信号を含む蛍光の偏光特性は光束(R)と同様になることがわかる。逆の場合は、光束(L)と同様になる傾向がある。このとき、光エコー信号を含まない蛍光の偏光成分は、蛍光の背景光ノイズに対しては、光エコー信号を含む蛍光と同条件になっている。

【0025】蓄積光エコーの蛍光検出法に関する上記の特性を利用すると、蛍光の背景ノイズを消して、光エコー信号のみを検出することが可能となる。すなわち、サンプルから発生する蛍光を、所定の互いに直交する偏光成分に分離して各々の強度を光検出器で検出し、得られた信号どうしの差を測定すれば良い。

【0026】

【実施例】以下、本発明の実施例について、図面を参照して説明する。

【0027】図1は、本発明の光学的検査方法を実施するための光学的検査装置の第1実施例の構成を示す概略光路図である。

【0028】本実施例の光学的検査装置は、光源100と、光変調光学系200と、検出系300とを備える。

【0029】光源100は、像面上で点光源とみなせる空間コヒーレンスを有し、かつ、一定の時間コヒーレンスを有するものが用いられる。好ましくは、被測定物の注目する光吸収帯の光学的位相緩和時間より短い時間コヒーレンスを有するものが用いられる。例えば、レーザー光源としては、モード同期アルゴンレーザー励起色素レーザー、マルチモード半導体レーザー、モード同期半導体レーザー、固体レーザー、ガスレーザー等を用いることができる。レーザー以外の光源としては、LED、希ガスランプ、ハロゲンランプ、水銀ランプ等、または、粒子加速器等からの放射光を用いることができる。本実施例の場合、具体的には、レーザー光源としてモード同期アルゴンレーザー励起色素レーザーを用いている。

【0030】光変調光学系200は、上記光源100からの光を、互いに直交する直線偏光よりなる2光束に分割し、それぞれの光路を進行させた後、合成する2光路干渉光学系210と、この干渉光学系210の分割された一方の光路中に配置される光遅延器230と、分割された他方の光路中に配置される干渉光学系の位相変調器220とを有する。

【0031】2光路干渉光学系210は、半波長位相板211と、入射光を互いに直交する直線偏光よりなる2

8

光束に分割する偏光分割器として機能する偏光ビームスプリッタ212と、分割された一方の光束を反射する反射鏡215と、この光束を光遅延器230に入射させると共に、光遅延器230からの出射光を元の光路の延長上に戻すための、互いに直交する反射鏡216a、216bと、分割された他方の光束を位相変調器220に入射させると共に、位相変調器220からの出射光を元の光路の延長上に戻すための、互いに直交する反射鏡214a、214bと、分割された2光束を合成する合成器として機能する偏光ビームスプリッタ217とを有する。反射鏡216a、216bは、反射鏡215と偏光ビームスプリッタ217との間、および、反射鏡214a、214bは、反射鏡213と偏光ビームスプリッタ217との間に、それぞれ配置される。

【0032】光遅延器230は、可動ステージ232と、この可動ステージ232上に配置されたコーナークューブリズム231とで構成される。可動ステージ232は、光路の長さを変更する方向に移動する機能を有する。すなわち、コーナークューブリズム231を載置するための盤233と、この盤を移動させるための図示しない駆動機構とを有する。この駆動機構は、後述する制御装置(コンピュータ350)により変位量が制御される。コーナークューブリズム231は、反射鏡216a、216bとの間で、光束を折り返し反射するためのものである。この光遅延器230は、可動ステージ232を変位させることにより、コーナークューブリズム231の、反射鏡216a、216bとの距離を変更させて、光路長を変化させる。

【0033】位相変調器220は、光を折り返し反射させるコーナークューブリズム221と、このコーナークューブリズム221が一端に連結され、このブリズム221を周期的に変位させるための圧電素子222と、この圧電素子222を一定の周波数fの交流電圧で駆動する駆動装置223とを有する。すなわち、この位相変調器220は、コーナークューブリズム221で反射される光を、周波数fで位相変調する。位相変調器220としては、本実施例のものに限らず、電気光学結晶を用いたものも使うことができる。

【0034】なお、本実施例では、光遅延器230および位相変調器220を、それぞれ分割された光路の一方および他方に分けて配置しているが、これに限定されるものではない。光遅延器230および位相変調器220の配置は、互いに、図1での光路とは異なる光路に入ることができる。また、同一の光路に配置することもできる。また、位相変調器220を可動ステージ232に載せる構成としてもよい。

【0035】検出系300は、上記偏光ビームスプリッタ217で合成されて出射された光を試料のある位置まで導いて、試料に照射するための照射光学系310と、試料Mを保持するための試料保持部320と、試料Mか

9

ら放射される蛍光を集光すると共に、互いに直交する直線偏光に分離する検出光学系330と、蛍光を電気的に検出して、その電気信号を処理する信号処理部340と、光遅延器230の制御および上記処理された信号に基づいて、情報処理を行うコンピュータ350とを有する。

【0036】照射光学系310は、上記偏光ビームスプリッタ217で合成されて出射された光の向きを代えるための反射鏡311と、この出射光を集光して、試料Mに照射させるための集光レンズ312とを有する。また、試料保持部320は、本実施例の場合ヘリウムクライオスタットで構成される。

【0037】検出光学系330は、試料Mから放射される蛍光（光エコー）を集光するレンズ331と、該レンズ331の焦点位置に置かれた絞り332と、絞り332を通過した光を平行光に変換するレンズ333と、必要な蛍光のみを選択するための色ガラスフィルタ334と、任意の角度方向に偏光した直交偏光成分を分離する偏光ビームスプリッタ335とを備える。絞り332は、試料M表面の光スポットと共役な位置に配されたピンホールである。また、色ガラスフィルタ334は、これに代えて、各種分光器を使うことができる。

【0038】信号処理部340は、偏光ビームスプリッタ335で分離された各偏光成分を検出するための光センサである光電子増倍管341、342と、それぞれの光電子増倍管341、342の出力を差動増幅する差動アンプ343と、差動アンプ343の出力から、周波数2fの信号成分のみ増幅して、光エコー信号として出力するロックインアンプ344とを備える。なお、本実施例では、光センサとして、光電子増倍管を用いているが、これに限定されない。

【0039】コンピュータ350は、光遅延装置230の可動ステージ232の位置の制御と、測定データの処理とを少なくとも行う中央処理ユニット（CPU）351と、CPU351のプログラム、測定データ等を記憶するメモリ352と、データの変換等の処理を行うインタフェース353とを備える。また、出力装置354が接続される。

【0040】CPU351は、目的の遅延時間 τ となるように、光遅延装置230の可動ステージ232の位置を制御するための信号を生成して、出力すると共に、遅延時間 τ と光エコー信号とに基づいて、光学的位相緩和時間を求める処理を行う。また、メモリ352には、測定データとして、遅延時間 τ と光エコー信号が対となって記録される。出力装置354は、例えば、表示装置、プリンタ等が含まれる。本実施例では、表示装置およびプリンタが接続されている。なお、これに加えて、入力装置（図示せず）を備える。また、CPU351は、本実施例では、遅延時間 τ と光エコー信号が対となった測定データを、例えば、後述する図4に示すようなグラフ

10

にして、表示または印刷する機能を有する。

【0041】次に、本実施例の作用について、図面を参照して説明する。

【0042】まず、試料Mを、試料保持部320に設置する。また、コンピュータ350は、光遅延装置230の可動ステージ232の位置を、指定された遅延時間 τ となるように制御するための操作信号を生成して、インタフェース353を介して、光遅延器230の図示していない駆動装置に送る。この駆動装置は、送られた操作信号に応じて、ステージ232を変位させる。それによって、コーナーキューブプリズム231と、反射鏡216a、216bとの間の距離が変化し、遅延時間が変化する。さらに、駆動装置223を起動して、予め定めた周波数fの交流電圧を圧電素子222に印加して、圧電素子222を周波数fで振動させる。それによって、周波数fによってコーナーキューブプリズム221が周期的に変位し、粗の変位に応じて光路長が変化する。

【0043】次に、光源100を起動して、光束を放射させる。放射された光は、干渉光学系200に、入射する。すなわち、半波長位相板211を経て、偏光ビームスプリッタ212に入射して、互いに直交する直線偏光よりなる2光束に分割される。

【0044】分割された一方の光束は、反射鏡215、反射鏡216aを経て、光遅延器230のコーナーキューブプリズム231に入射して、折り返し反射されて、反射鏡216bを経て偏光ビームスプリッタ217に向かう。ここで、光束は、コーナーキューブプリズム231の変位に応じた遅延時間が加わって、この光路を進行する。

【0045】分割された他方の光束は、反射鏡213、反射鏡214aを経て、位相変調器220のコーナーキューブプリズム221に入射して、折り返し反射されて、反射鏡214bを経て偏光ビームスプリッタ217に向かう。ここで、光束は、コーナーキューブプリズム221の周期的変位に応じて位相変調される。

【0046】分割された二つの光束は、偏光ビームスプリッタ217において合成され、この干渉光学系200から出射され、検出系300に入射する。

【0047】検出系300では、光束は、照射光学系の、反射鏡311およびレンズ312を経て、試料Mに、光スポットの形で照射される。そして、試料Mから放射される光が、レンズ331で、絞り332の開口332aに集光される。これにより、照射光学系そして、レンズ333により平行光に変換される。この平行光は、色ガラスフィルタ334を通過して、必要な蛍光のみを選択される。そして、偏光ビームスプリッタ335を経て、互いに直交する偏光成分に分離されて、それぞれ、光電子増倍管341、342に入射する。この時、光エコー信号を含む蛍光の偏波成分と、光エコー信号を含まない蛍光の偏波成分とに分離されて、対応する光電

子増倍管341, 342に入力される。

【0048】光電子増倍管341, 342は、それぞれ、光電変換作用により、入射光をその光量に応じた電気信号に変換して出力する。これらの電気信号は、差動アンプ343により、同相成分が除去され、差分が増幅されて出力される。すなわち、上述した蛍光の背景ノイズが除去される。この後、差動アンプ343の出力は、ロックインアンプ344に入力される。ロックインアンプ344は、周波数2fの信号成分のみ増幅し、光エコー信号として出力する。

【0049】ロックインアンプ344から出力された信号は、インタフェースにおいてアナログ信号からデジタル信号に変換され、CPU351に取り込まれる。そして、CPU351は、その時の遅延時間 τ と光エコー信号とを、測定データとして対でメモリ352に格納する。

【0050】また、CPU351は、次の遅延時間 τ を示す操作信号を光遅延器230に送って、上記と同様にして、光エコー信号を検出する。以下、この動作を種々の遅延時間について繰返し、それぞれにおける測定データをメモリ352に蓄積する。このようにして、遅延時間 τ と光エコー信号との対のデータが蓄積されたところで、CPU351は、遅延時間 τ と光エコー信号とに基づいて光学的位相緩和時間を求める処理を行う。そして、結果が、出力装置354により表示される。

【0051】次に、上記のように構成される第1実施例の光学検査装置を用いた実験例について説明する。

【0052】(実験例) 例えば、ローダミン系の色素(XRITC)を用いて、人体の胃の切片組織(厚さ約5ミクロン)を光学濃度約0.01で染色したものを試料Mとして、これにレーザー光を照射して、測定を行った。この時、光源100のレーザー波長は600nm付近に選択し、位相変調器220の周波数fは、20KHzとした。試料Mは、試料保持部320のクライオスタットで、7ケルビンまで冷却した。照射光学系310により、試料M上の一点にレーザービームを固定し、光遅延器230のステージ232の位置を走査しながら、各遅延時間 τ について、検出光学系330を介して試料の蛍光を取り込み、光電子増倍管341, 342で電気信号に変換した。得られた電気信号を差動アンプ343で差動増幅器において、背景ノイズを除去した。そして、40KHzの電気信号のみをロックインアンプ14により増幅して、コンピュータ350のメモリ352に、遅延時間 τ と共に記録した。その後、コンピュータ350により、図4に示すグラフを作成した。

【0053】本実施例の光学検査装置で測定した結果を、図4に示す。図4(a)は本実施例の装置で測定した結果であり、図4(b)は蛍光の偏光分割を行わずに測定した結果である。明らかに、本実施例の装置で測定した方がSN比が改善されていることがわかる。この場

合、光学的位相緩和時間は、信号強度の対数の遅延時間に対する傾きから求めた。

【0054】次に、本発明の第2実施例について、図3を参照して説明する。

【0055】図3に示す本発明の第2実施例は、光源100と、光変調光学系200と、検出系300とを有する。ここで、光源100および光変調光学系200は、第1実施例のものと同一である。本実施例は、検出系300の構成において、第1実施例と相違する点がある。すなわち、本実施例を構成する検出系300は、試料Mにおいて生じる光スポットを3次元走査できるようにした点、および、試料Mに対して落射照明を行なっている点において、第1実施例と相違する。そこで、ここでは、相違点を中心に説明する。

【0056】本実施例で用いられる検出系300は、光変調光学系200から出射される光束を受ける反射鏡311と、反射鏡311からの光を2次元走査する走査機構370と、走査された光を試料Mに投射すると共に、蛍光を集光するための対物レンズ系を構成するレンズ362および363と、レンズ363の焦点位置を試料Mの深さ方向に走査するための駆動装置364と、試料Mを保持する試料保持部320と、照射光と試料からの蛍光とを分離する半透鏡361とを有する。また、検出系300は、半透鏡361で分離された蛍光を集光するレンズ336と、該レンズの焦点位置にその開口(ピンホール)332aが配置された絞り332と、絞り332を通過した光を平衡項に変換するレンズ337と、色ガラスフィルタ334と、偏光ビームスプリッタ335と、分離された各偏波成分を検出する光電子増倍管341, 342とを備える。さらに、検出系300は、図3には示していないが、第1実施例において用意されている信号処理部およびコンピュータを備えている。

【0057】走査機構370は、回転軸が互いに超っ跨る位置関係となるように配置された回転ミラー371, 372と、それらの駆動を制御する制御装置とで構成される。回転ミラー371, 372としては、例えば、ガルバノミラーを用いることができる。具体的には、ミラーと、これを回転させるモータ、例えば、ステッピングモータとで構成される。また、制御装置373は、本実施例では図示していないが、コンピュータとの間で、起動/停止信号、走査位置を示すアドレス信号等の授受を行なっている。

【0058】このような構成において、本実施例では、まず、駆動装置364で、試料Mの深さ方向の特定位置にレンズ363の焦点を合わせるようにする。ついで、光変調光学系200から出射される光束を、走査機構370において、回転ミラー371, 372を回転させて、予め定めた順序で走査する。具体的には、一方のミラー水平方向の走査に用い、他方のミラーを垂直方向の走査に用いる。このようにして、照射光を、走査しつ

つ、対物レンズ系362、363を介して試料Mに投射させる。

【0059】一方、試料Mから放射される光は、対物レンズ系363、362により集光して、照射時とは逆方向に進行させる。そして、半透鏡361で分離して、レンズ336で、絞り332の開口332aに集光させる。この絞り332で、散乱光等の迷光を除去して、レンズ337で再び平行光に変換する。そして、色ガラスフィルタ334を通過して、必要な蛍光のみを選択し、偏光ビームスプリッタ335を経て、互いに直交する偏光成分に分離して、それぞれ、光電子増倍管341、342に入射する。この時、光エコー信号を含む蛍光の偏波成分と、光エコー信号を含まない蛍光の偏波成分とに分離されて、対応する光電子増倍管341、342に入力される。光電子増倍管341、342は、それぞれ、光電変換作用により、入射光をその光量に応じた電気信号に変換して出力する。

【0060】これらの電気信号は、図示していない信号処理部およびコンピュータによって、第1実施例と同様に、測定データとして処理される。ただし、本実施例では、各遅延時間 τ について、3次元走査アドレスと対応させて測定データを記憶する。従って、試料Mについて、立体的に位相緩和時間を知ることができる。

【0061】上記第1実施例では、試料の一点について、位相緩和時間を求める実験を行なっているが、本実施例では、試料を三次元的に走査して、それぞれの点で、第1実施例の実験例と同様のデータを取得した。このデータをもとに、試料の位相緩和時間について、立体的な分布が得られた。

【0062】また、上記各実施例では、位相変調器220および光遅延器230において、コーナーキューブプリズムを用いているが、同様に機能するものであれば、他のものを用いてもよい。例えば、直角に配置した

ミラーを用いることができる。

【0063】

【発明の効果】本発明によれば、被観察物体の微細な形状のみならず、微細部分の光位相緩和時間を測定することにより、その物性の差を明らかにすることができた。また、励起レーザー強度が揺らいでいたり、測定装置が振動していても、蛍光から蓄積エコーを正確に測定することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明による第1実施例の光学的検査装置の構成を示す光路図。

【図2】蓄積光エコーの蛍光検出法の原理を示す概略光路図。

【図3】本発明による第2実施例の光学的検査装置の構成を示す光路図。

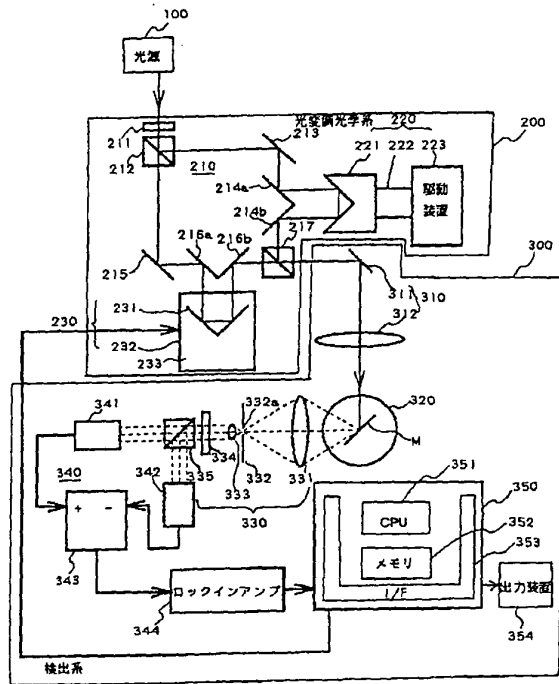
【図4】本発明による第1実施例の光学的検査装置によって測定した結果を示すグラフ。

【符号の説明】

100…光源、200…光変調光学系、211…位相板、212、217、335…偏光ビームスプリッタ、213、215…反射鏡、214a、214b、216a、216b…反射鏡、220…位相変調器、230…光遅延器、221、231…コーナーキューブプリズム、222…圧電素子、232…移動ステージ、300…検出系、310…照射光学系、312、331、333、336、337、362、363…レンズ、320…試料保持部、330…検出光学系、334…色ガラスフィルタ、332…絞り、340…信号処理部、341、342…光電子増倍管、343…作動アンプ、344…ロックインアンプ、350…コンピュータ、370…走査機構、371、372…ガルバノミラー、M…試料。

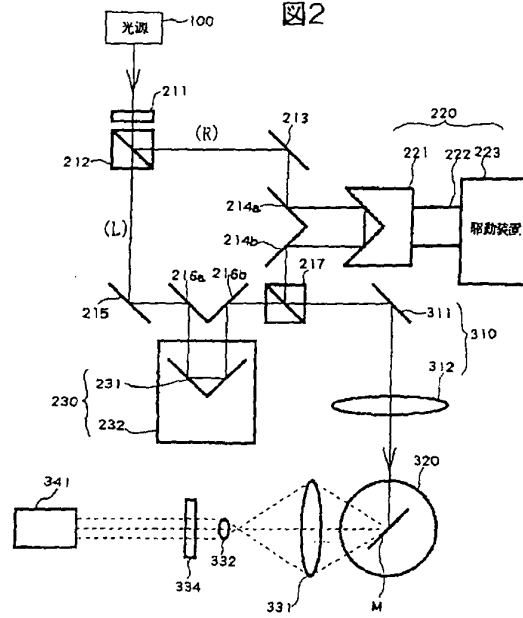
【図1】

図1



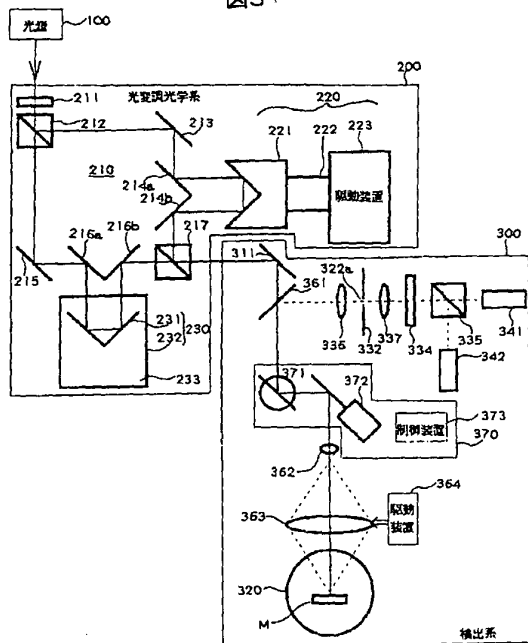
【図2】

図2



【図3】

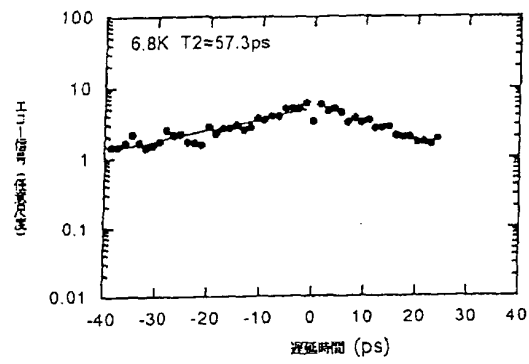
図3



【図4】

図4

(a) 実施例1の装置による測定結果



(b) 偏光分割を行わないで測定した結果

